

---

**(54) NOVEL ACYL COMPOUND OF FATTY ACID**

(11) 58-79976 (A) (43) 13.5.1983 (19) JP  
(21) Appl. No. 56-178693 (22) 7.11.1981  
(71) NIPPON SHINYAKU K.K. (72) MAKOTO KITOU(2)  
(51) Int. CP. C07D207/46,A23J3/00,C07G7/00,C12P21/00

**NEW MATERIAL:** An acyl ester of N-hydroxysuccinimide with a fatty acid.

**EXAMPLE:** Palmitic ester of N-hydroxysuccinimide.

**USE:** An acylating agent of a protein, e.g. soybean glycinin, with a fatty acid, which is an oleophilic electrophilic substance, capable of giving a formed bonded substance and an enzymic decomposition substance having a high degree of emulsifiability, and usable for the food industry.

**PROCESS:** N-hydroxysuccinimide is reacted with a fatty acid, e.g. palmitic, octanoic or decanoic acid, in a solvent, e.g. tetrahydrofuran, in the presence of dicyclohexylcarbodiimide, to give an ester of the N-hydroxysuccinimide with the fatty acid, which is then added to a glycinin solution to afford an acylated glycinin with the fatty acid (a novel substance). The resultant acylated glycinin with the fatty acid is then dissolved in a standard buffer solution and decomposed in the presence of pronase to afford an acylated peptide with the fatty acid (a novel substance).

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭58—79976

⑪ Int. Cl.<sup>3</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和58年(1983)5月13日

C 07 D 207/46

7242—4C

A 23 J 3/00

7915—4B

C 07 G 7/00

6956—4H

C 12 P 21/00

7235—4B

発明の数 1

審査請求 未請求

(全 3 頁)

⑭ 新規な脂肪酸アシル化合物

宇治市五ヶ庄平野57番地の8植  
村ハウス内

⑮ 特 願 昭56—178693

⑯ 発 明 者 的場輝佳

⑰ 出 願 昭56(1981)11月7日

宇治市木幡御蔵山45番地の24

⑱ 発 明 者 鬼頭誠

⑲ 出 願 人 日本新薬株式会社

京都市左京区下鴨下川原町46番

京都市南区吉祥院西ノ庄門口町

地の72

14番地

⑳ 発 明 者 ザフルル・ハク

㉑ 代 理 人 弁理士 片岡宏

明 細 書

〔発明の名称〕

新規な脂肪酸アシル化合物

〔特許請求の範囲〕

1. N—ヒドロキシサクシニミドの脂肪酸アシルエステル
2. 脂肪酸アシル化グリシン
3. 脂肪酸アシル化グリシンのプロナーゼ分解によって得られる脂肪酸アシル化ペプチド

〔発明の詳細な説明〕

食品蛋白質とくに植物性蛋白質の機能的性質を改善することについては近年大いにその重要性が強調されている。しかしながら実際にはそれら蛋白質の機能的性質の改善はあまり進んでおらず、また時には好ましくない官能試験結果をもたらすことが大きな理由となり、植物性蛋白質や未利用蛋白質の利用の増大が阻まれているというのが現状である。

温和な条件下で食品蛋白質に化学的变化を与えると、もとの栄養価に悪影響を及ぼすことなくその機能的性質を高めることができる。たとえば食品蛋白質中のリジン残基を、無水コハク酸でアシル化することによってもとの機能的性質を改善することが提案されている。ナソシルエステルやナオエス

テルもまた生成するが、これらは短時間のあいだに水性媒体中において加水分解されてしまう。

このようにして多くの食品蛋白質が処理されているが、従来はその成功の度合はまちまちであった。なお食品蛋白質の化学的修飾のためのいろんな試薬については Glazer や Feeney その他の研究者による立派な総説がある。

さて、生体膜の構造についての我々の理解度ならびにその生体内システムの重要性が深まるにつれて、蛋白質と脂質の相互作用の研究に対する新しい関心が高まってきた。このような相互作用は、多くの食品蛋白質の機能的性質をきめる際に決定的な役割を演じているものと長い間認められてきた。そのような役割の重要性と複雑性の一例として小麦粉パン生地を維持する際における蛋白質と脂質間の相互作用の役割を挙げることができる。たとえば、大豆粉で強化した小麦粉を用いて製造したパンの機能的品質を改良するのにある種の極性脂質が有用であるとの報告があり、またパン生地の極性脂質は主に親水性結合によってグリファジンと結合し、また同時に疎水性結合によって主にグルテニンと結合しているとも報告されている。

また本発明者らも、ホスファチジルコリンと大豆蛋白質と

の会合は前者の分子と後者の蛋白質中の疎水性領域との疎水性相互作用や前者のラメラと後者の蛋白質表面との結合にもよるものであることを見出した。なお、これらの共有結合は未だ報告されてない。

ところで、疎水性残基が親水性蛋白質分子と共有結合しておこる蛋白質の機能的変化と、そこで生ずる界面活性能は興味ある研究課題といえるが、今までのところ食品蛋白質を含めそのような化学的変成についての報告は見られない。もっとも、最近になって酵素的にL-ノルロイシンドデシル基とコハク酸化O- $\gamma$ -カゼインとの共有結合を、蛋白質分子のカルボキシル末端でおこさせ、そのような結合を一つだけ生じさせることが報告されている。しかし、カゼインはそれが取り込まれるより前に酵素で分解をうける離点がある。

以上のべたような現状を背景として、本発明者らに塩基触媒を用いてのエステル交換反応によって親水性大豆グリシニン分子に親油性成分を導入することについての研究を行った。つまり、新規物質であるところのN-ヒドロキシサクシニミドの脂肪酸アシルエステルを親油性求核物質として用いることによってグリシニンのアシル化が有利に進行しかつ<sup>ここ</sup>で生成された結合物ならびにその酵素分解物が高度の乳化作用

(3)

## 実施例1

N-ヒドロキシサクシニミド3.6gとパルミチン酸8.1gをテトラヒドロフラン62.5mlに溶解し、氷浴で0℃に保つ。こゝへ攪拌下にジシクロヘキシルカルボジイミド6.5gを徐々に30分を要して加え、さらに0℃で2時間攪拌したのち25℃に一夜保つ。反応液を濾過し濾液を蒸発させ残渣を酢酸エチル100mlに溶解させる。これを食塩水で洗滌し、濾紙(ワットマン1PS)を用いて濾過し、硫酸ソーダで乾燥させたのち減圧下に蒸発させ、得られたものを酢酸エチル-石油エーテルから再結晶すると薄片状のパルミチン酸エステルを得る。収率66%。融点88-91℃。

同様にして次のエステル類を製造した。

エステル名	融点
オクタノイン酸エステル	52-53℃
デカノイン酸エステル	70-72℃
ラウリン酸エステル	74-77℃
ミリスチン酸エステル	82-83℃
オレイン酸エステル	(油状)

次に、これらのエステル類を親油性求核試薬として用いることにより大豆グリシニンに脂肪酸アシル基を導入させる。

(5)

を有し食品工業上有用であることを基礎として本発明を完成した。

すなわち本発明は次の要素から構成される。

(1) N-ヒドロキシサクシニミド脂肪酸アシルエステル。このものは文献未載の新規物質であり、蛋白質たとえば大豆グリシニンのアシル化剤として有用である。

(2) 脂肪酸アシル化グリシニン。本品もまた新規物質であって強力な乳化作用を有し、諸工業たとえば食品工業上有用なものである。

(3) 脂肪酸アシル化グリシニンのプロナーゼによる分解産物。これもまた新規物質でかつ強力な乳化作用を有し、諸工業たとえば食品工業上有用である。

以下順をおって説明する。まず最初のN-ヒドロキシサクシニミド脂肪酸アシルエステルについてのべる。N-ヒドロキシサクシニミド自体に化学試薬として既知であるがその脂肪酸アシルエステルは未だ合成に成功した例はない。本発明者はN-ヒドロキシサクシニミドの種々の脂肪酸アシルエステルの製造に成功し、かつ得られたものが蛋白質の脂肪酸アシル化剤などとして有用であることを見出した。以下にこのような新規な脂肪酸アシルエステル類の製法を示す。

(4)

この反応はたとえば2-メルカプトエタノールの存在下又は不存在下に、8M尿素の存在のもとでpH 9.0及び25℃で反応させるのが好ましい。その具体例を次に示す。

## 実施例2

(a)実施例1で得たパルミチン酸エステル62.5mgを含有するテトラヒドロフラン50mlを、8Mの尿素を含有する0.5M標準緩衝液中の0.5%グリシニン溶液(450ml)に徐々に添加し、得られる混合物をpH 9.0、25℃に保つ。その反応容器を、「腕振り攪拌器」を用い毎分50ストローク(225mm)で攪拌する。次いでこれを遠心分離し、1MのNaClを含む標準緩衝液pH 7.6へ透析させて反応を終了させる。これをエーテルで5回洗滌し、遠心と透析を交互にくり返し行ない、最後に10mMの2-メルカプトエタノール含有蒸留水へと透析する。このようにして得られたパルミチル化グリシニンは4℃で保存する。収率は54%であった。なお、ガスクロマトグラフを用いての定量の結果、この方法で得られたパルミチル化グリシニンは11モルのパルミチル基をとり込んでいることが判明した。

(b)上記と同じ反応を2-メルカプトエタノールを用いずに行なったところ類似のパルミチル化グリシニン(但しとり込

(6)

まれたパルミトイル基は5モル)が77%の収率で得られた。

同様の反応によりオクタノイル化、デカノイル化、ラウロイル化、ミリストイル化及びオレオイル化されたグリシニンを得ることができた。

なお、このようにして得られた脂肪酸アシル化グリシニンの乳化作用を Pearce 及び Kinsella の方法 (J. Agric. Food Chem. 26, 716, 1978) によりしらべた。その結果、グリシニンの乳化能を100とした場合にパルミトイル化グリシニンの乳化能は、実施例2(a)により得たものは246であり、また実施例2(b)により得たものは266という高い値を示した。他の脂肪酸アシル化グリシニンにおいても、これとは同様の乳化能指数を示した。

次いで、こゝに得られた脂肪酸アシル化グリシニンをプロナーゼ酵素で分解することにより、依然として強力な乳化作用を示す脂肪酸アシル化ペプチドが製造される。その実施例を次に示す。

### 実施例3

パルミトイル化グリシニン100mgを、実施例2に示す標準緩衝液10mlにとかし、この溶液をプロナーゼE5mgの存在下 pH 7.0, 40℃の条件で3時間反応させた。反応後、

(7)

### 手続補正書(自発)

昭和56年11月18日

特許庁長官 島田春樹 殿

### 1. 事件の表示

昭和56年11月7日付提出の特許願(願番番号通知未受領)

### 2. 発明の名称

新規な脂肪酸アシル化合物

### 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 〒601 京都市南区吉祥院西ノ庄門口町14番地

名称 (415) 日本新薬株式会社

取締役社長 森下弘

### 4. 代理人

居所 〒601 京都市南区吉祥院西ノ庄門口町14番地

日本新薬株式会社内

氏名 (6136) 弁護士 片岡

### 5. 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄

この溶液の pH を 0.1 N 塩酸を用いて 6.0 に調節したのち、

クロロホルム-メタノール-ブタノール混液(2:1:2容  
量比)で抽出して、分解産物なるパルミトイル化ペプチドを  
製造した。このもののペプチド部分はパルミトイル基1コあ  
たりアミノ酸残基が4~5コ結合したものである。

同様にしてオクタノイル、デカノイル、ラウロイル、ミリス  
トイル及びオレオイル化されたペプチドを対応する脂肪酸  
アシル化グリシニンのプロナーゼEによる分解によって製造  
した。このようにして製造された脂肪酸アシル化ペプチド類  
もまた強力な乳化作用を示す。

以 上

(8)

### 6. 補正の内容

(1) 明細書第3頁下から3行目に「親油性求核物質」とあるの  
を、「親油性親電子物質」に訂正する。

(2) 明細書第5頁下から2行目に「親油性求核試験」とあるの  
を、「親油性親電子試験」に訂正する。

以 上